Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 2, Summer 2019, p. 223-232

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸، ص. ۲۳۲-۲۲۳

بررسی ساختار ژنتیکی و روابط فیلوژنی اسب‌های کاسپین، عرب و تالشی

رضا سید شریفی[1*] - سجاد بادبرین[2] - نعمت هدایت ایوریق[1] - سیما ساور سفلی[3] - جمال سیف دواتی[1] - حسن خمیس آبادی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۱/۲۹

چکیده

نژادهای بومی به دلیل دارای بودن ویژگی‌های منحصر به فرد، جزء ذخایر ژنتیکی کشور محسوب شده و شناخت بیشتر ساختار ژنتیکی آنها به حفظ و حراست آنها و تدوین برنامه‌های اصلاح نژادی کمک خواهد کرد. در این پژوهش تنوع ژنتیکی ۱۳۶ رأس اسب از سه نژاد ایرانی (کاسپین، عرب و تالشی) با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهواره توصیه شده توسط انجمن بین المللی ژنتیک حیوانی، مورد بررسی قرار گرفت. تمام نشانگرهای استفاده شده چند شکل بودند و نشانگرهای ASB17 با ۱۲ آلل و HMS6 با ۶ آلل به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد آلل را تولید کردند. بیشترین و کمترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار به ترتیب در نشانگرهای VHL20 (۰/۷۸) و ASB23 (۰/۶۲) محاسبه شد. میانگین شاخص شانون برای همه جایگاه‌ها برابر با ۱/۷۲ به دست آمد. در نمودار فیلوژنی رسم شده با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA (۱۴)، اسب‌های کاسپین و تالشی در یک شاخه و اسب‌های عرب در شاخه جداگانه قرار گرفت. آنالیز واریانس مولکولی نشان داد که تنوع ژنتیکی زیادی در درون نژادهای بررسی شده وجود دارد و با توجه به جمعیت کم اسب‌های تالشی و کاسپین، پیشنهاد می‌شود برنامه‌های اصلاح نژادی جهت بهبود کارایی و جلوگیری از انقراض آنها تا رسیدن به سطح امن طراحی و اجرا گردد.

واژه‌های کلیدی : اسب‌های تالشی، تنوع ژنتیکی، روابط فیلوژنی، کاسپین و عرب، نشانگرهای ریزماهواره.

مقدمه

امروزه نژادهای اسب زیادی بر اساس صفات مورفولوژیکی، منشاء جغرافیایی و کارایی آنها طبقه بندی شده‌اند. تنوع آب و هوایی و قدمت تاریخی کشور سبب به وجود آمدن نژادهای منحصر به فرد شده است. اسب‌های کاسپین، تالشی و عرب سه نژاد منحصر به فرد اسب کشور هستند که خصوصیات مشترکی دارند. اسب‌های عرب و کاسپین از قدیمی ترین و زیباترین اسب‌های دنیا هستند که اصالت و هوش بالایی دارند (۲ و ۱۶). اسب‌های تالشی مستحکم و قوی بوده و بیشتر جهت حمل و نقل و کار استفاده می‌شوند. اسب‌های عرب جمعیت زیادی از اسب‌های کشور را شامل می شوند و در سراسر کشور پراکنده هستند در حالی که محل پراکنش اسب های کاسپین و تالشی در حاشیه‌های دریای خزر است و جمعیت کمی دارند و در معرض خطر انقراض هستند. با ماشینی شدن زندگی و استفاده از وسایل موتوری جهت حمل و نقل و کار، جمعیت اسبها به شدت در حال کاهش است و حتی بعضی از نژادها منقرض شده‌اند (۵). شناخت بیشتر از ساختار ژنتیکی نژادهای بومی نقش مهمی در حفاظت و مدیریت ژنتیکی آنها در آینده خواهد داشت (۲۰).

نشانگرهای ریزماهواره کاربرد زیادی در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها و نژادهای مختلف داشته و به عنوان یک ابزار تکمیلی به همراه سایر نشانگرهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در بررسی روابط فیلوژنتیک مورد استفاده قرار گرفته است (۴، ۸، ۹ و ۲۰). پژوهش‌های پیشین نشان داده است که نشانگرهای ریزماهواره برای بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای اسب نیز کارایی بالایی داشته و اطلاعات خوبی برای حفاظت از نژادهای در خطر انقراض فراهم می‌کند. با توجه به اینکه پژوهش‌های متعددی در سراسر دنیا در زمینه تعیین تنوع ژنتیکی

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران،
۲- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران،
۳- استادیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
(*- ایمیل نویسنده مسئول: reza_seyedsharifi@yahoo.com
DOI: 10.22067/ijasr.v11i2.69408

نژادها و توده‌های مختلف اسب انجام شده است (۱۱، ۱۲ و ۱۳). ابرل و همکاران (۱) تنوع ژنتیکی شش نژاد اسب آلمانی را با گروهی از اسب های سواری و وحشی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مقایسه کردند. در این پژوهش مشخص گردید که با وجود اندازه های جمعیت متفاوت، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در میان نژادهای سنگین بسیار کم بود، اما به طور قابل توجهی پایین تر از نژادهای هانوروین و ایسلندی بود. گوپتا و همکاران (۶) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره به بررسی تنوع ژنتیکی شش نژاد اسب هندی و مقایسه آن با تنوع ژنتیکی نژاد تاروبرد پرداختند. در این تحقیق هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در تمام نژادهای هندی بیشتر از نژاد تاروبرد محاسبه شد. همچنین جمالی و همکاران (۷) تنوع ژنتیکی شش نژاد اسب بومی تونس را با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بررسی نمودند. در این تحقیق مشخص شد که تمایز ژنتیکی واضحی بین نژادهای بررسی شده وجود دارد و مقدار قابل توجهی از تنوع ژنتیکی در میان جمعیت است. اما در ایران تحقیقات کمی در این زمینه صورت گرفته است. در تحقیقات صورت گرفته در ایران تاکید شده است که نشانگرهای ریزماهواره به دلیل نشان دادن هتروزیگوسیتی بالا نشانگرهای خوبی جهت تعیین تنوع ژنتیکی اسب‌های بومی کشور هستند. همچنین تنوع درون نژادی اسب‌های کرد، ترکمن و کاسپین ایران به نسبت بالا محاسبه شده است (۲، ۳، ۱۷ و ۱۸). با توجه به اینکه تحقیقات محدود و یا با تعداد کمی نشانگر ریزماهواره روی اسب‌های بومی کشور انجام شده است، پژوهش حاضر با هدف بررسی ساختار ژنتیکی سه نژاد اسب بومی ایران و ترسیم درخت فیلوژنی مربوطه با استفاده از ۱۲ نشانگر ریزماهواره توصیه شده توسط انجمن بین المللی ژنتیک حیوانی (ISAG) انجام گرفت.

مواد و روش

در این پژوهش از تعداد ۱۳۶ اسب از نژادهای تالشی (۲۵ نمونه)، کاسپین (۴۹ نمونه) و عرب (۶۲ نمونه) به صورت تصادفی و حتی الامکان غیرخویشاوند نمونه الیاف (مو) تهیه شد. در مورد اسب‌های تالشی از اسب‌های تولید کنندگان محلی شمال استان گیلان، در مورد نژاد کاسپین از باشگاه‌های سوارکاری استان‌های تهران و گیلان و در مورد نژاد عرب از باشگاه‌های سوارکاری استان‌های تهران، خوزستان و البرز نمونه گیری صورت گرفت. تشخیص نژاد اسب‌ها بر اساس کتاب‌های تبارنامه چاپ شده توسط فدراسیون سوارکاری و ویژگی-های فنوتیپی آنها صورت گرفت. نمونه‌های مو از یال اسب‌ها گرفته شد و دقت شد که پیاز مو هم همراه با نمونه‌ها باشد و سپس جهت استخراج DNA از فولیکول آنها به آزمایشگاه ارسال شد. استخراج DNA از ریشه مو و با استفاده از روش نمکی انجام گرفت. پس از تعیین غلظت و یکسان سازی غلظت DNAهای استخراج شده، کلیه افراد مورد مطالعه برای ۱۲ نشانگر ریزماهواره توصیه شده توسط انجمن ژنتیک حیوانی (ISAG) تعیین ژنوتیپ شدند (جدول ۱). ترکیب و غلظت واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) شامل ۲/۵ میلی مول $MgCl_2$، ۰/۲ میکرومول از هر پرایمر، ۰/۲ میلی مول dNTPs، ۰/۷ واحد Taq پلی مراز در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر بود. واکنش تکثیر در دستگاه ترموسایکلر بیومترا ساخت کشور آلمان و با برنامه دمایی واسرشته سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، مرحله چرخه‌ای به تعداد ۳۰ چرخه و شامل واسرشته سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، اتصال آغازگرها به مدت ۴۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سلسیوس، تکثیر DNA به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام گرفت. محصولات حاصل از واکنش PCR با استفاده از الکتروفورز ژل اکریل آمید تفکیک و با استفاده از روش نیترات نقره نمایان شد. اندازه آلل‌ها در مقایسه با شاخص اندازه PUC 8 تعیین و سپس وارد نرم افزار اکسل شد.

تعداد آلل مشاهده شده (na) و موثر (ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He)، شاخص شانون (I)، ضریب درون آمیزی (F_{IS})، فاصله و شباهت ژنتیکی، تعادل هاردی واینبرگ و همچنین درخت فیلوژنی میان نژادهای مورد بررسی با استفاده از نرم افزار POPGENE 1.31 محاسبه گردید (۱۹). معمول‌ترین معیار محاسبه تنوع ژنتیکی در یک جمعیت مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار است که برآوردی از میزان تنوع ژنتیکی برای نشانگرهای مورد بررسی در درون آن جمعیت را فراهم می کند و با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

$$Nei= 2n/2n-1(1-\sum Pii^2) \quad \text{(رابطه ۱)}$$

در این رابطه P_{ii} فراوانی آلل‌های هموزیگوت نشانگر ریزماهواره مورد نظر می باشد. تنوع ژنتیکی بین و درون نژادها با استفاده از روش آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) و به کمک نرم افزار GENALEX 2.0 محاسبه شد (۱۵). برای محاسبه فاصله یا شباهت ژنتیکی بین تمام افراد موجود در تحقیق از ضریب تشابه جاکارد استفاده شد و گروه بندی آنها به روش UPGMA و با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.02 انجام گردید (۱۴).

جدول ۱– نام نشانگر مورد استفاده، توالی، دمای اتصال، کروموزوم و محدوده اندازه آللی

Table 1- The name of the marker used, the sequence, the binding temperature, the chromosome, and the allele size range

نام نشانگر Marker name	کروموزوم Chromosome	محدوده آللی Alle range	شماره ثبت در NCBI Registration number in NCBI	دمای اتصال Connection temperature	توالی آغازگرهای رفت و برگشت Sequence of back and forth primers
AHT4	24	164–144	Y07733	58	F: AACCGCCTGAGCAAGGAAGT R: CCCAGAGAGTTTACCCT
AHT5	8	144–126	Y07732	58	F: ACGGACACATCCCTGCCTGC R: GCAGGCTAAGGAGGCTCAGC
ASB17	15	129–87	X93531	58	F: ACCATTCAGGATCTCCACCG R: GAGGGCGGTACCTTTGTACC
ASB2	2	250–216	X93516	54	F: CACTAAGTGTCGTTTCAGAAGG R: CACAACTGAGTTCTCTGATAGG
ASB23	3	211–175	Y93537	58	F: GAGGGCAGCAGGTTGGGAAGG R:ACATCCTGGTCAAATCACAGTCC
HMS3	9	170–148	X74632	58	F: CATCCTCACTTTTTCACTTTGTT R: AACTCTTTGTCACATAACAAGA
HMS6	4	169–151	X74635	58	F: AGCTGCCAGTATTCAACCATTG R: CCATCTTGTGAAGTGTAACTCA
HMS7	1	185–165	X74636	58	F: TTGTTGAAACATACCTTGACTGT R: GGAAACTCATGTTGATACCATC
HTG10	21	115–95	AF169294	54	F: TTTTATTCTGATCTGTCACATTT R: AATTCCCGCCCCACCCCCGGCA
HTG4	9	139–127	AF169165	55	F: TATCTCAGTCTTGATTGCAGGAC R: CTCCCTCCCTCCCTCTGTTCTC
LEX33	4	217–203	AF075635	58	F: TTTAATCAAAGGATTCAGTTG R: GGGACACTTTCTTTACTTTC
VHL20	30	105–87	X75970	60	F: AGTCCTCTTACTTGAAGACTAG R: ACTCAGGGAGAATCTTCCTCAG

نتایج و بحث

تمام نشانگرهای مورد استفاده در این پژوهش، چند شکل بودند. بیشترین و کمترین تعداد آلل مشاهده شده به ترتیب در جایگاه ASB17 با ۱۲ آلل و HMS6 با ۶ آلل مشاهده شد. همچنین بیشترین و کمترین تعداد آلل موثر به ترتیب در جایگاه VHL20 (۶/۱۵) و HTG4 (۳/۴۰) محاسبه شد (جدول ۲). کمتر بودن تعداد آلل‌های موثر از مشاهده شده نشان می‌دهد که تعداد زیادی از آلل-های آن جایگاه فراوانی کم و تعداد کمی آلل دیگر فراوانی بیشتری دارند. میانگین تعداد آلل مشاهده شده و موثر در تمام جایگاه‌ها به ترتیب برابر با ۸/۹۲ و ۴/۵۴ بود. با توجه به اختلاف نسبتا زیاد این دو شاخص معلوم می‌شود که نشانگرهای استفاده شده کارایی نسبتا خوبی برای محاسبه تنوع ژنتیکی داشته‌اند زیرا هرچه میانگین تعداد آلل مشاهده شده به موثر نزدیک‌تر باشد نشان دهنده اثر مناسب‌تر آلل‌ها در نشان دادن چندشکلی و تخمین تنوع ژنتیکی است. در تحقیقات پیشین میانگین تعداد آلل مشاهده شده و مورد انتظار در اسب‌های کاسپین ۴/۱۲ و ۳/۱۸ به ترتیب محاسبه شده است (۲). با توجه به اینکه تعداد آلل مشاهده شده و مورد انتظار به شدت تحت تاثیر تعداد افراد بررسی شده می باشد، بنابراین اختلاف این مقادیر می‌تواند به دلیل استفاده از تعداد نشانگرهای کمتر (۸ نشانگر) و یا اندازه جمعیت کوچکتر (۳۰ رأس) در مقایسه با پژوهش حاضر باشد. در پژوهش های دیگر که روی سایر نژادهای اسب صورت گرفته است میانگین تعداد آلل های موثر متفاوتی گزارش شده است به طوری که در نژادهای بومی هند ۵/۷۵ (۶)، در نژادهای تونسی ۳/۷۹ (۷) و در نژاد عرب ۳/۲۸ (۸) محاسبه شده است. مقایسه تعداد آلل

های موثر حاصل از پژوهش حاضر با مطالعات قبلی تقریبا تطابق داشت.

بررسی تعادل هاردی واینبرگ به کمک آزمون مربع کای نشان داد که بجز نشانگرهای ASB2 و HMS3 در نژاد تالشی، نشانگرهای ASB17 و HTG4 در نژاد کاسپین و نشانگر ASB17 در نژاد عرب، همه نشانگرها انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی واینبرگ داشتند ($P<0.05$). بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به نشانگر AHT5 (۰/۸۱) و کمترین هتروزیگوت مشاهده شده مربوط به نشانگرهای ASB17 و HTG4 (۰/۶۸) بود. از آنجا که نشانگرهای با چند شکلی بالا اطلاعات بیشتری برای بررسی تنوع ژنتیکی فراهم می‌کنند، بنابراین نشانگر AHT5 در این پژوهش بیشترین میزان اطلاعات را فراهم کرده است. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای تمام نشانگرهای مورد استفاده در این تحقیق به نسبت بالا و به ترتیب برابر با ۰/۷۵ و ۰/۷۸ برآورد گردید (جدول ۲). نزدیکی این مقادیر به عدد ۱ نشان دهنده مناسب بودن نشانگرهای استفاده شده برای بررسی تنوع ژنتیکی اسب‌های بومی کشور هستند. در تحقیقات پیشین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در اسب‌های کاسپین به ترتیب برابر با ۰/۹۴۳ و ۰/۶۷۶ محاسبه شده است (۲). اختلاف مقادیر محاسبه شده در مقایسه با پژوهش حاضر می‌تواند به دلیل اندازه کم جمعیت نمونه برداری شده باشد. همچنین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در اسب‌های ترکمن صحرا، ترکمن جرگلان و کرد به ترتیب ۰/۳۱۶، ۰/۳۶۶ و ۰/۷۵۰ و میزان هتروزگوسیتی مورد انتظار در اسب‌های ترکمن صحرا، ترکمن جرگلان و کرد نیز به ترتیب ۰/۳۱۶، ۰/۶۸۵ و ۰/۷۸۰ محاسبه شده است (۳ و ۱۸).در تحقیقات صورت گرفته روی اسب های دیگر کشورها نیز میزان هتروزگوسیتی عموما بالاتر از ۵۰ درصد محاسبه شده است (۶، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱). بنابراین نشانگرهای ریزماهواره به دلیل هتروزیگوسیتی بالا، نشانگرهای کارآمدی جهت بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای مختلف اسب هستند.

شاخص شانون نیز همانند هتروزیگوسیتی مشاهده شده، میزان تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد و به دلیل اینکه حداکثر مقدار آن برابر با Ln(n) می باشد، برای بیان تنوع ژنتیکی جایگاه‌های با چند شکلی زیاد مفید است. بیشترین و کمترین مقدار شاخص شانون برابر با ۱/۹۶ و ۱/۴۶ به ترتیب مربوط به نشانگرهای VHL20 و HTG4 محاسبه شد. با توجه به اینکه نشانگر VHL20 بیشترین و نشانگر HTG4 کمترین تعداد آلل موثر را نشان دادند، بنابراین مقادیر محاسبه شده فوق برای شاخص شانون قابل توجیه است.

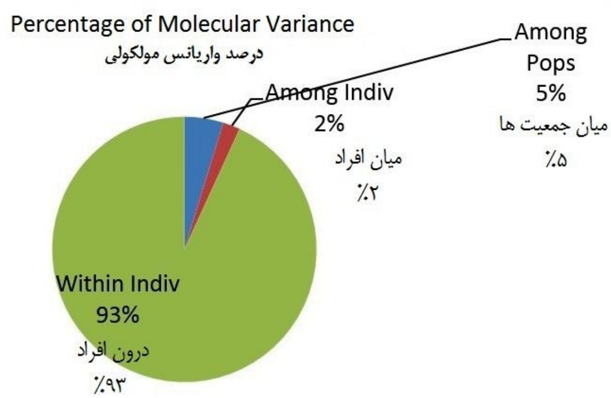
جدول ۲– نام نشانگر، تعداد آلل های مشاهده شده و موثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و شاخص شانون

Table 2- The name of the marker, the number of observed and effective alleles, the observed and expected heterozygosity and the Shannon index

نام نشانگر Marker name	تعداد آلل مشاهده شده The number of alleles observed	تعداد آلل موثر Number of effective alleles	شاخص شانون Shannon Indicator	هتروزیگوسیتی مشاهده شده Heterozygosity observed	هتروزیگوسیتی مورد انتظار Expected heterozygosity[1]
AHT4	10	5.15	1.83	0.79	0.81
AHT5	8	4.19	1.60	0.81	0.76
ASB17	12	3.67	1.73	0.68	0.73
ASB2	10	4.43	1.78	0.77	0.77
ASB23	10	5.02	1.81	0.72	0.80
HMS3	8	4.31	1.63	0.77	0.77
HMS6	6	4.56	1.61	0.76	0.78
HMS7	8	4.48	1.72	0.71	0.78
HTG10	10	4.86	1.83	0.74	0.79
HTG4	7	3.40	1.46	0.68	0.71
LEX33	8	4.31	1.65	0.79	0.77
VHL20	10	6.15	1.96	0.77	0.84
میانگین Average	8.92	4.54	1.72	0.75	0.78
انحراف استاندارد Standard deviation	1.68	0.71	0.13	0.04	0.03

[1] Nei's (14) unbiased expected heterozygosity

آنالیز واریانس مولکولی به عنوان یکی از شاخص‌های تقسیم تنوع ژنتیکی به مقادیر بین و داخل نژادها به کار می‌رود. با استفاده از این روش، تنوع ژنتیکی درون افراد ۹۳ درصد، تنوع ژنتیکی بین نژادی ۵ درصد و تنوع ژنتیکی بین افراد ۲ درصد محاسبه شد. این موضوع نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی محاسبه شده بیشتر در میان افراد درون نژادها بوده و بین نژادها تفاوت کمی وجود داشته است (شکل ۱). در تحقیقات پیشین نیز میزان تنوع درون جمعیتی زیادی برای نژادهای کاسپین و عرب گزارش شده است (۲ ، ۸، ۹ و ۱۶). وجود تنوع ژنتیکی درون جمعیتی زیاد نشان دهنده ناهمگنی بیشتر در درون جمعیت مذکور بوده و امکان طراحی و اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی بیشتری برای متخصصین اصلاح نژاد فراهم می‌آورد.



شکل ۱– نمودار تجزیه واریانس مولکولی بر روی تمام افراد مورد مطالعه بر اساس معیار Fs

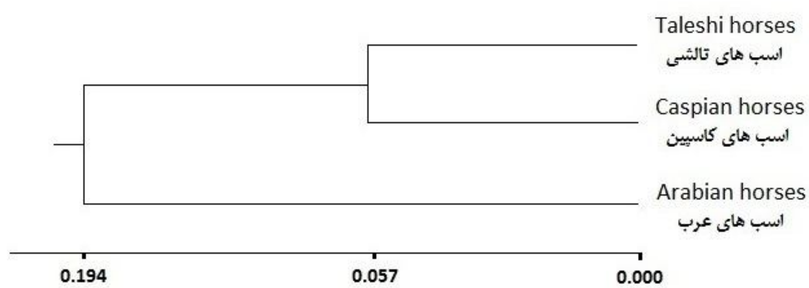
Figure1- Molecular analysis of variance analysis on all subjects studied based on Fs criterion

در پژوهش حاضر جریان ژنی بالایی در بین نژادهای مورد بررسی محاسبه شد. جریان ژنی موجب انتقال آلل‌ها از یک جمعیت به جمعیتی دیگر می‌شود و نقشی کلیدی در تغییر فراوانی آلل‌ها دارد. با توجه به اینکه جریان ژنی بالا به نظر می‌رسد اختلاط زیادی در بین این نژادها در زمان‌های قدیم صورت گرفته باشد. میزان فاصله ژنتیکی بین دو نژاد تالشی و کاسپین برابر با ۰/۰۵۷ و بین دو نژاد کاسپین و عرب نیز برابر با ۰/۸۲۴ برآورد شد (جدول ۳). بنابراین امکان دارد نژادهای بررسی شده منشاء نژادی یکسانی داشته باشند. دندروگرام رسم شده بر اساس روش فاصله ژنتیکی نااریب نئی و روش UPGMA (۱۴) همپوشانی خوبی با نواحی جغرافیایی پراکنش و خصوصیات مورفولوژکی نژادهای مورد بررسی داشت. اسب‌های کاسپین و تالشی که شباهت ظاهری بیشتری به هم دارند و مناطق پراکنش آنها نزدیک به هم است، در یک شاخه قرار گرفتند و نژاد عرب هم در یک شاخه جداگانه قرار گرفت (شکل ۲). مارلتا و همکاران (۱۳) نیز با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و تجزیه خوشه‌ای، اسب‌های ایتالیایی و اسپانیایی را به درستی در دو گروه متمایز ترسیم کردند. آنها پیشنهاد کردند که احتمالا در گذشته مهاجرت کمی بین این دو گروه نژادی صورت گرفته است.

جدول ۳- فاصله و شباهت ژنتیکی ناآریب نئی بین نژادهای بررسی شده (۱۴)

Table 3- Distant and unbiased genetic similarity between examined species (14)

نژاد Breed	تالشی Taleshi	کاسپین Caspian	عرب Arab
تالشی Taleshi	****	0.945	0.877
کاسپین Caspian	0.057	****	0.824
عرب Arab	0.132	0.194	****

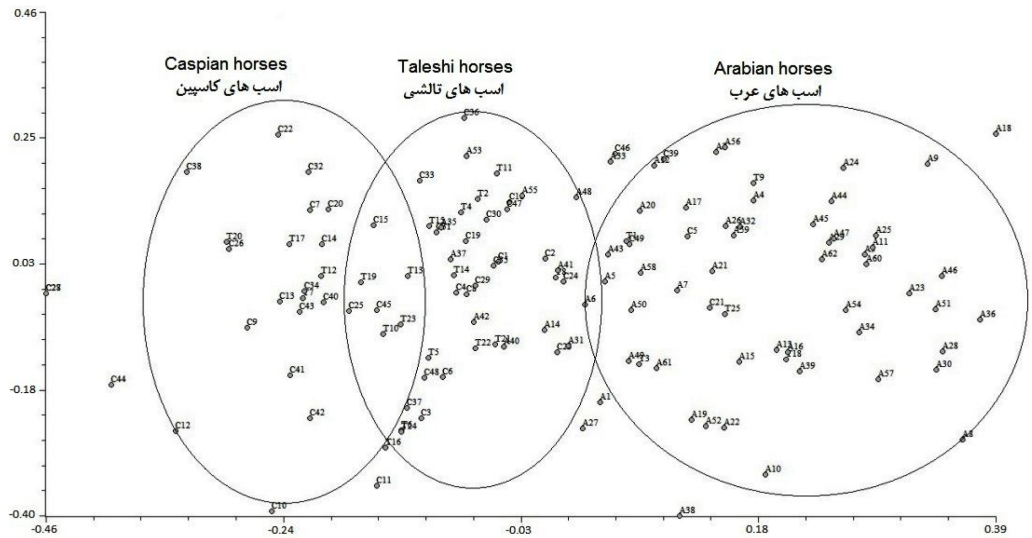


شکل ۲- دندروگرام رسم شده بر اساس فاصله ژنتیکی ناآریب نئی و روش UPGMA (۱۴)

Figure2- Draw a dendrogram based on the irregular genetic distance and the UPGMA method (14)

تجزیه بر اساس مولفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.02 انجام گرفت (۱۴) و با دو مولفه اول که بیشترین درصد تنوع را توجیه می‌کردند، نمودار دو بعدی محل قرار گرفتن تمام افراد روی آن ترسیم شد. بر اساس نتایج به دست آمده کل افراد مورد بررسی گروه بندی کاملا مجزایی نشان ندادند ولی تا حدودی اسب‌های عرب گروه بندی مجزایی از اسب‌های کاسپین و تالشی نشان دادند (شکل ۳). بیشترین میزان اختلاط مربوط به اسب‌های تالشی بود به طوری که بعضی از افراد این نژاد در دسته اسب‌های عرب و بعضی هم در مجاورت اسب‌های کاسپین گروه بندی شدند.

در اسب فقط تعداد کمی نژاد برای مسابقات توسعه یافته اند. تعداد زیادی از نژادها در این رقابت مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. در صورتی که کارایی و قابلیت ویژه‌ای در این نژادها تعریف نشود، با خطر انقراض روبرو خواهند شد. جایگزینی نژادهای بومی با نژادهای دیگر به منظور افزایش سودآوری منجر به کاهش تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌های مختلف دامی کشور و بخصوص اسب گردیده است. کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومی موجب از دست رفتن بسیاری از ژن‌های مفید، خصوصا ژن‌های سازگار با محیط‌های مختلف و مقاوم به بیماری‌های منطقه‌ای خواهد شد. در کشورهای توسعه یافته معمولا یک سازمان یا انجمنی به منظور جلوگیری از انقراض و تخریب ذخایر ژنتیکی وجود دارد و نژادها به خوبی مورد بررسی قرار می‌گیرند. اما در ایران چنین تشکیلاتی منسجمی وجود ندارد و خطر از دست رفتن ذخایر ژنتیکی اسب‌های بومی بسیار بیشتر است.



شکل ۳– نمودار دو بعدی پراکنش افراد مورد بررسی به کمک دو مولفه اصلی

Figure 3- Two-dimensional diagram of the distribution of the subjects with the help of two main components

نتیجه‌گیری

از بین رفتن تنوع ژنتیکی می‌تواند موجب بروز ناهنجاری‌های ژنتیکی، نقص‌های ژنتیکی، مشکلات تولید مثلی، کاهش طول عمر و انقراض یک نژاد شود. نژادهایی که جمعیت کمتری دارند بیشتر در خطر تغییرات ژنتیکی و انقراض قرار دارند. بدون تردید توجه به تنوع ژنتیکی نژادهای با اندازه جمعیت کوچک مانند تالشی و کاسپین بسیار قابل اهمیت است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با توجه به تعداد کم اسب‌های تالشی وکاسپین، هنوز هم تنوع ژنتیکی در حد بالایی قرار دارد، بنابراین می‌توان امیدوار بود با اتخاذ تدابیر اصولی مانع از انقراض آنها در طولانی مدت شد. از این رو پیشنهاد می‌شود که کتاب تبارنامه نژادی مربوط به تمام اسب‌های بومی کشور بر اساس قوانین بین المللی نوشته شود تا بتوان بر اساس اطلاعات آن نسبت به خالص سازی و بهبود ژنتیکی آنها برنامه ریزی نمود.

منابع

1- Aberle, K. S., H. Hamann, C. Drogemuller, and O. Distl. 2004. Genetic diversity in German draught horse breeds compared with a group of primitive, riding and wild horses by means of microsatellite DNA markers. Animal Genetics, 35: 270-277.

2- Amirinia, C., H. R. Seyed Abadi, M. H. Banabazi, and M. A. Kamali. 2007. Bottleneck study and genetic structure of Iranian Caspian horse population-using microsatellite. Pakistan Journal of Biological Science, 10 (9): 1540-1543.

3- Behroozinia, S., S. Z. Mirhoseini, F. Afraz, A. Sohrabi, A. Mohammadi, S. Shahbazi, and S. B. Dalirsefat. 2011. Genetic description of two Iranian Turkmen horse populations of Turkmen Sahra and Turkmen Jergalan regions using microsatellite markers. Iranian Journal of Animal Science, 3 (1): 63-66. (In Persian).

4- Bigi, D., and G. Perrotta. 2012. Genetic structure and differentiation of the Italian catria horse. Journal of Heredity, 103: 134–139.

5- FAO. 2000. World Watch List for Domestic Animal Diversity. Third edition. Rome. Italy.

6- Gupta, A. K., M. Chauhan, A. Bhardwaj, N. Gupta, S. C. Gupta, Y. Pal, S. N. Tandon, and R. K. Vijh. 2014. Comparative genetic diversity analysis among six Indian breeds and English Thoroughbred horses. Livestock Science, 163: 1-11.

7- Jemmali, B., M. M. Haddad, N. Barhoumi, S. Tounsi, F. Lasfer, A. Trabelsi, B. Ben Aoun, I. Gritli, S. Ezzar, A. Ben Younes, M. H. Ezzaouia, B. Rekik, and H. O. Ahmed. 2017. Genetic diversity in Tunisian horse breeds. Archives Animal Breeding, 60: 153-160.

8- Khanshour, A., E. Conant, R. Juras, and E. G. Cothran. 2013. Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. Journal of Heredity, 104: 386–398.

9- Khanshour, A., R. Juras, R. Blackburn, and E. G. Cothran. 2014. The Legend of the Canadian Horse: Genetic Diversity and Breed Origin. Journal of Heredity, 106 (1): 37-44.

10- Laliotis, G. P., and M. Avdi. 2017. Genetic diversity assessment of an indigenous horse population of Greece. Biotechnology in Animal Husbandry, 33 (1): 81-90.

11- Mackowski, M., S. Mucha, G. Cholewinski, and J. Cieslak. 2015. Genetic diversity in Hucul and Polish primitive horse breeds. Archives Animal Breeding, 58: 23-31.

12- Mahrous, K. F., M. Hassanane, M. A. Mordy, H. I. Shafey, and H. Nagwa. 2011. Genetic variations in horse using microsatellite markers. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 9: 103-109.

13- Marletta, D., I. Yupanqui, S. Bordonaro, D. Garcia, A. M. Guastella, A. Criscione, J. Canon, and S. Dunner. 2006. Analysis of genetic diversity and the determination of relationships among western Mediterranean horse breeds using microsatellite markers Journal of Animal Breeding and Genetics, 123: 315-325.

14- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetic, 89: 583-590.

15- Peakall, R., and P. E. Smouse. .2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. Bioinformatics, 28: 2537-2539.

16- Rukavina, D., D. Hasanbasic, A. Durmic-Pasic, B. Kalamujic, and A. Zahirovic. 2016. Genetic diversity of Arabian horse from stud borike (Bosnia and Herzegovina) using microsatellite markers. Journal of Veterinary Sciences, 2 (1): 21-25.

17- Samozad, M., M. Nasir, M. Aslaminejad, A. Tahmoorespour, M. Doosti, M. Ghyadi, and S. H. Ghovati. 2011. Investigation of genetic variation in Turkman horses of Iran using 4 microsatellite sites. Iranian Journal of Animal Science, 4 (4): 345-351. (In Persian).

18- Vahdani-Manaf, M. A., M. Mashayekhi, A. Hassanpour, and M. R. Ayobi. 2017. Study of genetic diversity in the Iranian Kurdish horse population. Animal Science Research, 27 (1): 95-102. (In Persian).

19- Yeh, F. C., R. Yang, and T. Boyle. 1999. POPGENE version 1.31, Microsoft windows based free ware for population genetic analysis, University of Alberta. Edmonton. Canada.

20- Zhang, Y. P., X. X. Wang, O. A. Ryder, H. P. Li, H. M. Zhang, Y. Yong, and P. Y. Wang. 2002. Genetic diversity and conservation of endangered animal species. Pure and Applied Chemistry, 74: 575-584.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 2, Summer 2019, p. 223-232

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸، ص. ۲۳۲-۲۲۳

Investigation of the genetic structure and phylogenic relationships of Caspian, Arabic and Taleshi horses

R. Seyedsharifi[1*]- S. Badbarin[2]- N. Hedayat[1]- S. Savarsofla[3]- J. Seifdavati[1]- H. Khamisabadi[2]

Received: 17-12-2017
Accepted: 18-04-2018

Introduction Due to having historical value and climatic diverse, Iran has unique horse breeds. Unfortunately, due to the lack of attention and control of the import of foreign breeds into this rich genetic source, huge damage has been created. Therefore, many horse breeds in the country got crossbred and their racial purity reduced. Knowing the genetic structure of native breeds will play an important role in their safeguarding and ensuring of their survival. Indigenous breeds, due to their unique characteristics, are considered as part of the genetic resources of the country, and their genetic structure will help them to protect and develop eugenic programs.

Materials and Methods This study was conducted on 136 horses including Taleshi (25 samples), Caspian (49 samples) and Arabic (62 samples) breeds from their breeding areas. Taleshi horse samples was captured from local stock in the Guilan province, Caspian samples was captured from horse riding clubs around Tehran and Guilan provinces, and Arabian samples was captured from horse riding clubs around the provinces of Tehran, Khuzestan and Alborz. They were unrelated and selected randomly. The race recognition of horses was based on books published by the Federation of Equestrian and their phenotypic characteristics. After determining of the concentration and uniformity of the concentration of extracted DNA, all individuals under study were conducted for 12 microsatellite markers recommended by the Animal Genetic Association (ISAG) to determine the genotype in order to estimate the parameters such as heterozygosity, inbreeding, Hardy and Weinberg equilibrium, and so on and find an appropriate strategy to maintain these valuable breeds. The number of observed alleles (na), and effective (ne), observed heterozygosity (Ho) and the Expectation case (He), Shannon index (I), inbreeding coefficient (ISF), genetic distance, genetic similarity, Hardy-Weinberg equilibrium, and phylogeny tree between races were calculated using POPGENE 1.31 software.

Results and Discussion All of the used markers were multi-shaped and the ASB17 markers with 12 alleles and HMS6 produced the highest and lowest number of alleles with 6 alleles, respectively. The highest and lowest expected heterozygosity were calculated in VHL20 (0.78) and ASB23 (0.62) markers, and the average Shannon index for all sites was 1.72. Hardy Weinberg balance analysis by Chi square test showed that except ASB2 and HMS3 markers in Taleshi breed, ASB17 and HTG4 markers in the Caspian breed and ASB17 markers in the Arabic breed, all markers had a

1- Associate professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Assistant professor, Animal Science Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran
3- Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
(*Corresponding Author Email: reza_seyedsharifi@yahoo.com)

significant deviation from Hardy and Weinberg equilibrium ($P < 0.05$). The highest observed heterozygosity was related to AHT5 marker (0.81) and the lowest observed heterozygote was related to ASB17 and HTG4 markers (0.68). The Shannon index, like the observed heterozygosity, shows the amount of genetic diversity, and because the maximum value is equal to Ln (n), it is useful to express the genetic diversity of multi-formed sites. The highest and lowest values of Shannon index were 1.96 and 1.46, respectively, for VHL20 and HTG4 markers. Given the fact that the VHL20 marker showed the highest and the HTG4 marker showed the least effective allele, so the calculated values for the Shannon index are justified. Phylogeny diagram showed that Caspian and Taleshi horses were placed in one branch and Arab horses in separate branch.

Conclusion Breeds with fewer populations are more at risk for genetic changes and extinction. Reducing of the genetic diversity of indigenous populations will result in the loss of many useful genes, especially those that are compatible with different environments and resistant to regional diseases. Undoubtedly, it is very important to pay attention to the genetic diversity of small-sized population of breeds such as Taleshi and Caspian. The results of this study showed that due to the low number of Caspian and Taleshi horses, genetic diversity is still at a high level, so it would be hoped that by adopting the principled measures, we would prevent their extinction in the long duration.

Keywords: Genetic diversity, Microsatellite markers, phylogeny tree, Taleshi, Caspian and Arabian horse.